Agricultural Sci. J. 44 : 3 (Suppl.) : 281-285 (2013) ว. วิทย. กษ. 44 : 3 (พิเศษ) : 281-285 (2556)

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกลุ่ม coliforms *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในระหว่างการผลิตผักโหระพาสดส่งออก

Contamination of Coliforms Bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. During Postharvest Handling in Fresh Sweet Basil Process for Export

รษิกา สีวิลัย[1,2] วราภา มหากาญจนกุล[1] สวรรณมนท์ เหล็กเพ็ชร์[2] และ วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล[2]

Rasiga Sevilai,[1,2] Warapa Mahakarnchanakul,[1] Savannamon Lekpetch[2] and Varusanee Prechanaruchitkul[2]

Abstract

The investigation of microbial contamination coliforms bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., in postharvest handling of fresh sweet basil for export was conducted. This study focused on sampling of sweet basil during preparation at collecting houses, finished products for export and water using in preparation. Sweet basil from different 2 sources was analyzed for microbiological quality. The first group was taken at collecting house #1, which was produce from GAP (Good Agriculture Practice) farm controlled by company and the second group at collecting house #2 was taken from GAP farm controlled by contract farmers. The result showed the presence of coliforms at all of step of production, at collecting house #1 as average as 4 $\log_{10}$CFU/g., while at collecting house #2 was higher as 5 $\log_{10}$CFU/g. *E. coli* contamination from collecting house #2 was found on produce during handling while the water using for washing at both collecting house was contaminated as well. Interestingly, *Salmonella* spp. was absence in any processes. The correlation of *E. coli* was positive to the amount of coliforms found in sweet basil. According to observation, water source and improper washing method may be the risk factors of contamination. Temperature and time are considered as the risk factors, as well as improper hygiene practices of the workers. Controlling all of the risk factors will reduce the contamination of pathogens during preparation at collecting house in order to produce safety fresh sweet basil for export.

Keywords: Collecting house, export, vegetables

บทคัดย่อ

ตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม coliform *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวโหระพาสดเพื่อการส่งออก สุ่มตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในระหว่างการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ผลิตภัณฑ์สุดท้าย รวมถึงน้ำที่เกษตรกรใช้ในการล้างผักที่จุดรวบรวมผลผลิต โดยมีวัตถุประสงค์เปรียบเทียบสุขลักษณะของการผลิตผักสดจากแหล่งที่มีการควบคุมการผลิตแตกต่างกัน คือแปลง GAP ที่บริษัทผู้ผลิตควบคุมเอง (จุดรวบรวม 1) และแปลง GAP ที่ควบคุมโดยการรวมกลุ่มของเกษตรกร (จุดรวบรวม 2) ที่จุดรวบรวม 1 พบ coliform โดยเฉลี่ย 4 $\log_{10}$CFU/g ในขณะที่จุดรวบรวม 2 พบมากถึง 5 $\log_{10}$CFU/g โดยเฉลี่ย พบการปนเปื้อน *E. coli* ในผักจากจุดรวบรวม 2 ในเกือบทุกขั้นตอนหลังการเก็บเกี่ยว และพบ *E. coli* ในน้ำล้างของทั้ง 2 แหล่ง อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ทุกขั้นตอนของการผลิตจากทั้ง 2 แหล่ง มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง *E. coli* และการปนเปื้อนของ coliform จากการสังเกตคาดว่าปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนคือคุณภาพน้ำและวิธีการล้างที่ไม่ถูกต้อง ตลอดจนการปฏิบัติอย่างไม่ถูกสุขอนามัยที่จุดรวบรวมผลผลิต ปัจจัยรองที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ ได้แก่อุณหภูมิและเวลาที่ไม่เหมาะสม การควบคุมปัจจัยเหล่านี้อย่างถูกต้องจะช่วยลดการปนเปื้อนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียชนิดก่อโรคในกระบวนการผลิตโหระพาเพื่อการส่งออกได้

คำสำคัญ: จุดรวบรวมผลผลิต ส่งออก ผัก

[1] ภาควิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-industry, Kasetsart University, Bangkok

[2] สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

[2] Plant Standard and Certification Office, Department of Agriculture, Bangkok

คำนำ

ประมาณ 60% ของการเกิดโรคระบาดมีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *E. coli* O157: H7 *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes* และ *Shigella* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีสาเหตุจากจาก *E. coli* O157: H7 และ *Salmonella* spp. มักมีความรุนแรงที่ทำให้พบการเสียชีวิตของผู้ป่วย DeWaal and Bhuiya (2007) การรายงานของกระทรวงอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. FDA) พบผู้ป่วย 82 รายที่เจ็บป่วยจากการบริโภคผักสด เช่น ผักใบเขียว ผักสลัด ผักโขม และสมุนไพร U.S. FDA (2009) ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยได้นำระบบการผลิตอาหารให้มีความปลอดภัยจะนำระบบ GAP (Good Agriculture Practice) ระบบ GMP (Good Manufacturing Practice) และระบบ HACCP (Hazard Analysis Critical and Control Point) มาใช้ควบคุมการผลิตโดยเฉพาะการผลิตผักสดส่งออก ระบบเหล่านี้นั้นมีส่วนช่วยให้คู่ค้ามั่นใจในสินค้า แต่ระบบจะเน้นการควบคุมกระบวนการผลิต ซึ่งยังไม่สามารถเชื่อมโยงกับความปลอดภัย ความเจ็บป่วยของผู้บริโภคได้โดยตรง อีกทั้งการจัดการผลผลิตของเกษตรกรที่จุดรวบรวมผลผลิต ยังไม่มีการควบคุมอย่างชัดเจน ทำให้ความแตกต่างของความเข้มงวดและการเคร่งครัดของการทำระบบ GAP มีผลต่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ส่งออก ดังนั้นการรวบรวมข้อมูลเชิงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ ความเข้มข้น (concentration) รวมถึงความชุก (prevalence) ของการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวในการผลิตผักสดส่งออก จักเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการทำระบบ GHP (Good Hygiene Practices) ณ จุดรวบรวมผลผลิตทางการเกษตรของเกษตรกร รวมถึงจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในศึกษาการประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) หรือโอกาสความเป็นไปได้ในการสัมผัสเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ต่อไป การศึกษาครั้งนี้ได้เก็บรวบรวมข้อมูลปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม coliform, *E. coli* และ *Salmonella* spp. ระหว่างจัดการหลังการเก็บเกี่ยวของการผลิตผักโหระพาสดส่งออก จนกระทั้งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ณ โรงคัดบรรจุ เพื่อที่จะหาแนวทางในศึกษารวบรวม และนำข้อมูลไปเป็นประโยชน์ในการพิจารณาและปรับปรุงกระบวนการผลิตผักสดส่งออกให้มีคุณภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ผลของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli*, *Salmonella* spp. และแบคทีเรียกลุ่ม coliform ในการผลิตผักโหระพาส่งออก

ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างต่อเนื่องตลอดเส้นทางการผลิตโหระพาเพื่อการส่งออก โดยโหระพาในการศึกษาครั้งนี้มาจาก 2 แหล่ง คือ 1. แปลง GAP ที่ผู้ผลิตควบคุมการปลูกเอง (จุดรวบรวม 1) จากจังหวัดราชบุรี และ 2. แปลง GAP ที่กลุ่มเกษตรกรควบคุมการปลูกและทำสัญญากับผู้ผลิต (จุดรวบรวม 2) จากจังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจาก 3 ขั้นตอนที่จุดรวบรวมผลผลิต ได้แก่ ขั้นตอนการรูดใบ-ตัดแต่ง ขั้นตอนก่อนล้าง และขั้นตอนหลังล้าง และ 2 ขั้นตอนที่โรงคัดบรรจุ ได้แก่ ขั้นตอนรับวัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยสุ่มตัวอย่างผักและน้ำที่ใช้ในการล้าง ณ จุดรวบรวม ดำเนินการเก็บตัวอย่างเช่นนี้ทั้งหมดจำนวน 3 รอบการผลิต

สุ่มตัวอย่างผักโหระพาด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ บรรจุตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างในกล่องโฟมที่ควบคุมอุณหภูมิ 8-10 ตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังเก็บตัวอย่าง การทดสอบ E. coli และ coliform ใช้จานอาหารทดสอบสำเร็จรูป Compact Dry EC (E. coli & coliform) (Microval, 2008) บ่มที่อุณหภูมิ 35+2 เป็นเวลา 22+2 ชั่วโมง บันทึกการเจริญของเชื้อโดยนับจำนวนโคโลนีบน Compact Dry ส่วนการทดสอบ Salmonella spp. ใช้วิธีทดสอบมาตรฐาน ISO 6579: 2002 (ISO, 2002)

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำล้างผักโหระพา ณ จุดรวบรวมผลผลิต ตัวอย่างน้ำจะถูกสุ่มใส่ในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1000 มล. โดยแบ่งการเก็บตัวอย่างน้ำเป็น 3 ช่วง คือ น้ำก่อนล้าง น้ำระหว่างการล้างผัก และน้ำหลังล้าง ตามลำดับ หลังจากได้ตัวอย่างน้ำเก็บรักษาไว้ในกล่องโฟมที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 8-10 ตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังเก็บตัวอย่าง ทดสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ E. coli ในน้ำโดยใช้วิธีทดสอบ APHA (2005) และการทดสอบ Salmonella spp. ใช้วิธีทดสอบมาตรฐาน ISO 19250: 2010 (E) (ISO, 2010)

ผล

1. ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม coliform *E. coli* และ*Salmonella* spp. ของการผลิตผักโหระพาส่งออก

หลังจากการตรวจวิเคราะห์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม coliform ซึ่งเป็นดัชนีตัวชี้วัดด้านสุขอนามัยในการทำงาน Wiener *et al.* (2009) นั้น มีการพบในทุกขั้นตอนของการผลิตผักโหระพา และพบว่าสามารถลดลงได้เมื่อผ่านกระบวนการผลิตในโรงคัดบรรจุ (Figure 1) ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* spp. นั้น พบว่าโหระพาจากจุดรวบรวม 1 ตรวจพบ *E. coli* ในตัวอย่างผักก่อนล้าง ส่วนจากจุดรวบรวม 2 ตรวจพบในทุกขั้นตอนยกเว้นผลิตภัณฑ์สุดท้าย และ *Salmonella* spp. นั้น ตรวจไม่พบในกระบวนการผลิตโหระพาทั้ง 2 แหล่ง (Table 1)

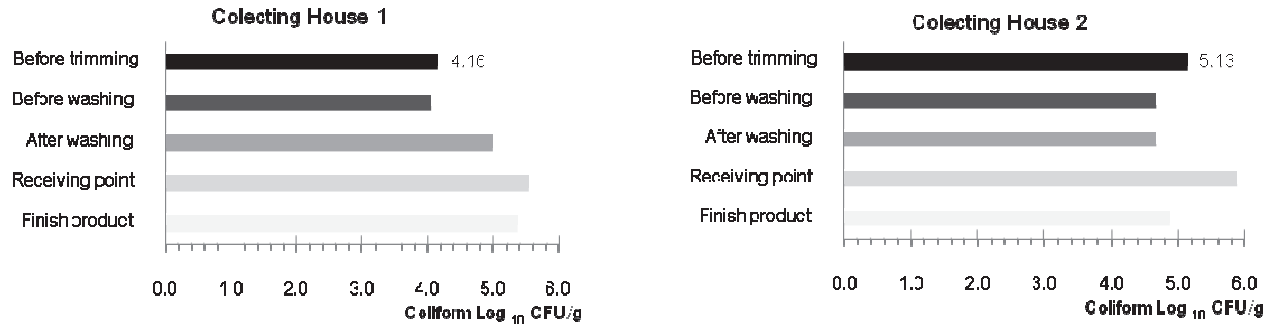

Figure 1 Average coliform populations contaminated in sweet basil during postharvest handling of sweet basil from GAP farm control by manufacturers (collecting house 1) and GAP farm control by contacts farmer group (collecting house 2).

Table 1 *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. populations contaminated in sweet basil during postharvest handling of sweet basil from GAP farm control by manufacturers (collecting house 1) and GAP farm control by contacts farmer group (collecting house 2)

Handling step	Crop	Collecting House 1		Collecting House 2	
		E. coli	*Salmonella* spp.	*E. coli*	*Salmonella* spp.
		(Log_{10} CFU/g)	(per 25 g)	(Log_{10} CFU/g)	(per 25 g)
Before trimming	1	ND[a]	ND[b]	ND[a]	ND[b]
	2	ND	ND	0.70	ND
	3	ND	ND	ND	ND
Before washing	1	ND	ND	0.70	ND
	2	1.18	ND	ND	ND
	3	ND	ND	3.10	ND
After washing	1	ND	ND	1.30	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	3	ND	ND	2.18	ND
Receiving point	1	ND	ND	1.74	ND
	2	ND	ND	-	ND
	3	ND	ND	2.23	ND
Finish product	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	-	ND
	3	ND	ND	ND	ND

ND[a] – Not Detected *E. coli* at dilution 10^{-1}

ND[b] – Not Detected *Salmonella* spp. in 25 g

2. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในน้ำล้างผัก ณ จุดรวบรวมผลผลิต

หลังจากการตรวจวิเคราะห์น้ำล้างทั้ง 3 ระยะที่ใช้ ณ จุดรวบรวม คือ น้ำก่อนล้าง น้ำระหว่างล้าง และน้ำหลังล้าง พบการปนเปื้อน *E. coli* ทั้ง 3 ระยะในการผลิตโหระพาทั้ง 2 แบบ ส่วน *Salmonella* spp. นั้นตรวจไม่พบในน้ำล้างทั้ง 2 แบบการผลิตเช่นกัน (Table 2)

Table 2 *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. populations contaminated in water during washing step at the collecting house during postharvest handling of sweet basil from GAP farm control by manufacturers (collecting house 1) and GAP farm control by contacts farmer group (collecting house 2)

Washing step	Crop	Collecting House 1		Collecting House 2	
		E. coli (per 100 ml)	*Salmonella* spp. (per 100 ml)	*E. coli* (per 100 ml)	*Salmonella* spp. (per 100 ml)
Water before washing	1	ND[A]	ND[B]	Detected	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	3	Detected	ND	Detected	ND
Water between washing	1	ND	ND	Detected	ND
	2	Detected	ND	Detected	ND
	3	Detected	ND	Detected	ND
Water after washing	1	Detected	ND	Detected	ND
	2	ND	ND	Detected	ND
	3	Detected	ND	Detected	ND

ND[A] – Not Detected *E. coli* in 100 ml

ND[B] – Not Detected *Salmonella* spp. in 100 ml

ในการล้างโหระพาของเกษตรกรทั้ง 2 แหล่งนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อลดอุณหภูมิในผัก (pre-cooling) และทำความสะอาดสิ่งสกปรกที่ติดมากับผลผลิต เกษตรกรใช้น้ำสะอาดรองใส่ภาชนะ ล้าง 1-2 ครั้งแล้วแต่ลักษณะปรากฏที่พบในแต่ละรุ่นการผลิต แหล่งน้ำของจุดรวบรวม 1 เป็นน้ำใต้ดินมีการดูดขึ้นมากักเก็บในวงบ่อขนาดใหญ่ก่อนนำมาใช้งาน ส่วนจุดรวบรวม 2 เป็นน้ำประปาหมู่บ้านเปิดโดยตรงจากก๊อกน้ำ ระบบการล้างของทั้ง 2 แหล่งเหมือนกันคือ เกษตรกรจุ่มโหระพาในน้ำและนำมาพึ่งในเข่งพลาสติก เมื่อเริ่มล้างจะเปิดน้ำลงในภาชนะตลอด เพื่อให้สิ่งสกปรกล้นออก รอแห้งพอหมาดแล้วนำไปเรียงลงตะกร้าพลาสติกเพื่อรอการขนส่งไปโรงคัดบรรจุต่อไป (Figure 2)

Collecting House 1

Collecting House 2

Figure 2 Postharvest handling practices in collecting house 1 and collecting house 2.

วิจารณ์ผล

จากผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกลุ่ม coliform *E. coli* และ*Salmonella* spp. ในการผลิตผักโหระพาส่งออก พบว่าปริมาณ coliform ที่สูงมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับโอกาสในการพบ *E. coli* ในกระบวนการผลิตโหระพาส่งออก จากการตรวจวิเคราะห์ในจุดรวบรวม 1 พบ coliform ในขั้นตอนรูดใบ-ตัดแต่งที่ 4.16±0.63 $\log_{10}$ CFU/g ส่วนในจุดรวบรวม 2 พบถึง 5.13±0.96 และยังตรวจพบ *E. coli* ในขั้นตอนถัดไปจนกระทั่งเป็นวัตถุดิบของการผลิต ณ โรงคัดบรรจุ แม้ว่า coliform จะไม่ได้มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์ แต่เป็นตัวชี้บ่งด้านสุขอนามัยในการปฏิบัติงานของคนงานและมีโอกาสปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูลในสภาพแวดล้อม Wiener *et al.* (2009) รวมถึง *E. coli* เป็นเชื้อที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับ coliform ซึ่งอาจจะเป็นไปได้สูงที่จะทำให้พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ส่วนการตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำล้าง ณ จุดรวบรวมนั้น วัตถุประสงค์หลักของการล้างเพื่อลดอุณหภูมิของผลผลิต เกษตรกรจึงไม่ได้มีการเติมสารฆ่าเชื้อลงไปในน้ำล้าง ซึ่งถ้ามีการปนเปื้อนในผลผลิตและน้ำที่ใช้แล้วนั้นน้ำจะเป็นตัวแพร่กระจายเชื้อที่ดีทำให้มีโอกาสการปนเปื้อนเชื้อทั้งรุ่นการผลิตได้ Pachepsky *et al.* (2011) รายงานว่าระบบการให้น้ำของเกษตรกรมีความเชื่อมโยงกับการระบาดและการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค โดยแหล่งที่พบเชื้อจุลินทรีย์มักจะเชื่อมโยงกับการปนเปื้อนในผลผลิต แหล่งน้ำที่ใช้เพาะปลูก และในสิ่งแวดล้อมของแหล่งปลูก ดังนั้นเกษตรกรควรต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ ประการที่จะมีผลต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การควบคุมคุณภาพน้ำที่จะนำมาใช้ล้างผลผลิตและแหล่งน้ำที่ใช้ในแปลง รวมถึงกระบวนการล้างที่ถูกต้องและเหมาะสม สุขอนามัยในการปฏิบัติงานในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว รวมถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งได้แก่ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ระหว่างการจัดการผลิตผล เป็นต้น

สรุป

จากการสุ่มตรวจปริมาณการปนเปื้อนของ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในโหระพาสดส่งออก 2 แหล่ง ไม่พบ *Salmonella* spp. แต่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ในทุกขั้นตอนการผลิต ดังนั้นหากต้องการให้การผลิตผักมีคุณภาพและความปลอดภัย ควรส่งเสริมและสนับสนุนเกษตรกร ผู้ผลิต และผู้ส่งออกให้พัฒนาระบบสุขลักษณะที่ดีในการผลิต (Good Hygiene Practice; GHP) ณ จุดรวบรวมผลผลิต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตรที่สนับสนุนบุคลากร อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณบริษัท ไทยเวอลด์ อิมปอร์ต เอ็กซปอร์ต จำกัดและบริษัท พีดีไอ เทรดดิ้ง จำกัด ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างและอนุเคราะห์ผักคุณภาพส่งออกในการทำวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

ISO. 2002. ISO 6579:2002 Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs –Horizontal Method for the Detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO. 2010. EN ISO 19250:2010 Water quality - Detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

APHA. 2005. APHA, AWWA and WEF, 21st Ed 2005 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition 2005: Part 9230 B. American Public Health Association, Washington D.C., USA.

Microval. 2008. The Microval Rule and Certification Scheme V. 5, The validation had been performed in accordance with EN ISO 16140: 2003, Certificate No.: MV0806-004LR / MV0806-005LR, COMPACT DRY EC.

DeWaal, C.S. and F. Bhuiya. 2007. Outbreak Alert 2007. Center for Science in the Public Interest. Ninth Edition. (Online). Available Source: http://www.cspinet.org. (August 1, 2012)

U.S. FDA. 2009. Guidance for industry: Guide to minimize microbial food safety hazards of leafy greens; draft guidance. U.S. Food and Drug Administration. (Online). Available Source: http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/ucm174200.htm. (August 1, 2012).

Wiene, S., B. Thiel, J. Kramer and U. Kopke. 2009. Hygienic quality of head lettuce: Effects of organic and mineral fertilizers. Food Control 20: 881–886.

Pachepsky, Y., D. Shelton, J. McLain, J. Patel and R. Mandrell. 2011. Irrigation Waters as a Source of Pathogenic Microorganisms in Produce: A Review. Advances in Agronomy 113: 76-141.